广西北部湾海域施氏獭蛤精巢发育、精子发生及超微结构观察

摘要：为探究广西北部湾海域施氏獭蛤精巢周年发育、精子发生的组织学和超微结构变化，本研究采用组织切片、扫描及透射电镜技术对广西北部湾海域施氏獭蛤精巢周年发育、精子发生和超微结构进行研究。结果表明，广西北部湾海域施氏獭蛤精巢发育周期为 1 年，可划分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期，繁殖盛期为 12 月至翌年 4 月，每期 1~2 个体性腺发育略滞后。精子发生可划分为增殖期、生长期、成熟期和变态期。雄性生殖细胞的发育可划分为精原细胞期、初级精母细胞期、次级精母细胞期、精细胞期，成熟精子期。施氏獭蛤精子属于鞭毛型，全长 39.76 ± 0.50μm。精子头部由近椭圆形的顶体和精核组成，顶体底部与精核相连处凹陷形成亚顶体腔，精核顶部形成核前窝，精核底部形成核后窝，细胞核内电子密度均匀，核中部存在间隙。中心粒复合体周围有 4 个线粒体围绕组成精子中部，线粒体近圆形，内嵴明显。质膜包裹轴丝形成精子尾部，尾部横切面可明显观察到“9+2”的双联体微管结构。此外，施氏獭蛤存在 A、B 两种不同类型的精原细胞，A 型精原细胞核内核仁不明显，B 型精原细胞核内核仁明显，B 型精原细胞存在于增殖期和生长期。

关键词：施氏獭蛤；精巢发育；精子发生；超微结构

Testis development, spermatogenesis and sperm ultrastructure of *Lutraria sieboldii* in Beibu Gulf of Guangxi

Abstract: To explore the histological and ultrastructural changes of the annual development of the testis and spermatogenesis of *L. sieboldii* in Beibu Gulf of Guangxi, the annual development of testis and ultrastructure of spermatozoa of *L. sieboldii* were studied through tissue section, scanning and transmission electron microscopy. Research showed that the testis completes a cycle in one year, which can be divided into proliferating stage, growing stage, maturing stage, spawning stage and resting stage. The spawning was from December to April of the next year, and the gonadal development of 1~2 individuals in each stage was slightly delayed. Spermatogenesis can be divided into proliferation period, growth period, mature period and metamorphosis period. The male reproductive cell can be divided into Spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, sperm cells prophase, metaphase and anaphase, and mature sperm. The sperm of *L. sieboldii* belongs to the flagella type, whose a total length of 39.76 ± 0.50 μm. The sperm head was composed of a nearly subelliptic spermatic acrosome and nucleus, the bottom of the acrosome and the spermatozoa connected with the spermatozoa were depressed to form a subacrosomal cavity. The electron density in the nucleus was uniform, and there was a gap in the middle of the nucleus. There are four mitochondria around the centriole complex to form the middle part of sperm, and the mitochondria are nearly round with apparent inner ridge. The plasma membrane wraps around the axial filaments to form sperm tail, and the “9+2” doublet microtubule structure can be clearly observed in the transverse section of the tail. In addition, there are two different types of spermatogonia: type A spermatogonia has no nucleolus in the nucleus while type B spermatogonia has nucleolus in the nucleus, and type B spermatogonia is distributed in the testis at different stages.

Key words: *Lutraria sieboldii*; testis development; spermatogenesis; ultrastructure

施氏獭蛤（*Lutraria sieboldii*）俗称“象鼻螺、牛螺”，隶属软体动物门（Mollusca）、瓣鳃纲（Lamellibranchia）、异齿亚纲（Heterodonta）、帘蛤目（Veneroida）、蛤蜊总科

（Mactracea）、蛤蜊科（Mactridae）、獭蛤属（*Lutraria*）（徐凤山 等，2008），分布于热带-亚热带海区和我国的东海及南海（蔡英亚 等，2005）。施氏獭蛤肉质鲜美，商业价值较高，具有较大养殖前景。目前国内外对施氏獭蛤的研究主要集中在人工育苗和养殖技术（刘永 等，2006；刘永 等 2007；张春芳 等，2010；王斌 等，2015）、遗传与育种研究（潘英 等，2007；焦宗垚 等，2010；Su et al, 2013；邹杰 等，2020；邹杰 等，2021）、软体部营养成分分析（潘英 等，2007）、水管肌和贝壳成分分析（Hunt et al, 1973）等方面。有关施氏獭蛤繁殖规律的研究较少，仅见性腺发育和生殖周期的组织切片报道（曹伏君 等，2012）。

精巢发育、精子发生及超微结构是物种分类鉴定的重要依据，对研究贝类受精机制和系统分类具有重要作用（Giribet et al, 2002；郑学斌 等，2018；李猛 等，2022）。众多学者利用组织切片技术对管角螺（*Hemifusus tuba*）（区小玲 等，2015）、熊本牡蛎（*Crassostrea sikamea*）（武祥伟 等，2020）、长牡蛎（*C. gigas*）（邓传敏 等，2017）等经济贝类的精巢发育进行了研究，利用电镜技术研究了褐蚶（*Didimarca tenebrica*）（杜晨 等，2015）、魁蚶（*Scapharca broughtoni*）（叶婧 等，2012）、毛蚶（*Scapharca subcrenata*）（竺俊全 等，2004）、泥蚶（*Tegillaca granosa*）（孙慧玲 等，2000）、钝缀锦蛤（*Tapes conspersus*）（连昌朋 等，2022）、虾夷扇贝（*Patinopecten yessoensis*）（韩厚伟 等，2008）、长牡蛎（韩龙江 等，2017）、文蛤（*Meretrix meretrix*）（董迎辉 等，2010）、斧文蛤（*M. lamarkii*）（董迎辉 等，2011）、帘文蛤（*M. lyrata*）（周小龙 等，2012）、菲律宾蛤仔（*Ruditapes philippinarum*）（代培芳 等，2004）、沟纹巴非蛤（*Paphia exarata*）（陈寅山 等，2006）、中国血蛤（*Hiatula chinensis*）（吴丽云 等，2010）、彩虹明樱蛤（*Moerella iridescens*）（余红卫，2012）、近江蛏（*Sinonovacula rivularis* sp. *nov.*）（黄瑞 等，2011）、长竹蛏（*Solen strictus*）（饶小珍，2007）、栉江珧（*Atrina pectinata*）（顾向飞 等，2013）等双壳贝类的精子超微结构。目前广西北部湾施氏獭蛤精子发生及精巢发育过程的超微结构尚未见报道。本研究拟通过周年性腺指数和组织切片技术确定广西北部湾海域雄性施氏獭蛤繁殖周期，采用扫描和透射电镜技术观察精子发生过程和成熟精子形态结构，旨在了解施氏獭蛤精子结构特点，为施氏獭蛤的系统分类、繁殖生物学和人工增养殖提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

2020 年 11 月至 2021 年 10 月，每月从广西北海市铁山港区营盘镇大王岭海区（109.43 °E, 21.45 °N）随机取 20 个 2-3 龄施氏獭蛤，共采集 240 个样品，其中雌性 128 个，雄性 112 个，雄性占样本总数 46.70%。施氏獭蛤表型性状参数见表 1。

表 1 施氏獭蛤表型性状参数

Tab.1 Phenotypic parameters of *L. sieboldii*

数值	壳长/ mm	壳宽/ mm	壳高/ mm	体质量/ g
平均值	94.17	31.97	46.03	99.05
最大值	116.80	43.83	57.74	199.96
最小值	80.12	24.72	39.53	55.40

1.2 方法

1.2.1 样品测量

采用数显游标卡尺（精度 0.02 mm）测量壳长、壳宽和壳高，电子称（精度 0.01 g）称量体质量。每月将施氏獭蛤样品解剖后，取出软体部，剥离精巢，分别称量软体质量和精巢质

量，计算施氏獭蛤雄性性腺指数，计算公式如下：性腺指数=精巢质量/软体质量×100%。

1.2.2 数据处理

使用 SPSS 26.0 数据分析软件，采用单因素方差分析方法（ANOVA，Duncan）比较一周年各月性腺指数的差异显著性（$P<0.05$），Excel 2019 整理数据和做图。

1.2.3 组织切片样品的制作及观察

取 1~2 g 精巢组织于 EP 管中，加入 Bouin's 液在常温下固定 2 d。样品送广西医科大学医学实验中心制成石蜡切片。使用浓度 70%的酒精（C_2H_5OH）中置换保存样品的 Bouin's 液，随后将样品放入不同浓度（70%、80%、95%和 100%）的酒精（C_2H_5OH）中脱水，石蜡包埋，使用轮转式切片机（RM2128）切片，使用水温为 37℃的恒温水浴锅烤片，H·E 染色，中性树脂包埋，尼康正置显微镜（E100）观察拍照。

1.2.4 扫描电镜样品的制样及观察

2021 年 4 月随机取 2 个雄性样品，用吸管吸取约 1 ml 成熟精巢中的精子，加入盐度 28 的海水稀释，2.5%戊二醛（$C_5H_8O_2$）固定，4℃冰箱（BCD-319WD11MP 型）保存 1 d。固定后的样品送武汉赛维尔生物公司制备观察。使用 0.1M 的磷酸缓冲液（PB）漂洗 15 min，将漂洗后的样品放入不同浓度（70%、80%、95%和 100%）的酒精（C_2H_5OH）中脱水，随后用乙酸异戊酯（$C_7H_{14}O_2$）置换。样品置换后放入 40℃的临界点干燥仪（Quorom K850 型）烘干，干燥后的样品用镊子粘至导电胶带，离子溅射仪（HITACHI MC100 型）喷金，日立 SU8100 扫描电镜观察拍照。

1.2.5 透射电镜样品的制样及观察

每月随机选 2 个雄性样品，剪取 1 g 精巢组织，加入 2.5%戊二醛（$C_5H_8O_2$），4℃固定 1 d，固定后的样品切成 1 mm^3 小块，再次放入装有 2.5%戊二醛（$C_5H_8O_2$）的 EP 管中保存。保存的样品送武汉赛维尔生物公司包埋观察。样品经浓度为 0.1M 的磷酸缓冲液（PB）连续漂洗，15 min/次，漂洗后的样品放入 50%-100%浓度的酒精（C_2H_5OH）中脱水，20 min/次，100%丙酮（CH_3COCH_3）再次漂洗 15 min，环氧树脂包埋，超薄切片机（Leica UC7）切片，日立 HT7700 透射电镜观察。

2 结果与分析

2.1 施氏獭蛤雄性性腺指数的周年变化

2020 年 11 月-2021 年 10 月持续 1 周年的施氏獭蛤雄性性腺指数与水温周年变化见图 1。由图 1 可知，2020 年 11 月-2021 年 1 月，水温从 22.00℃降低至 15.00℃，性腺指数从 2.07%上升至 3.80%，上升趋势不显著（$P>0.05$）；2021 年 2-3 月，水温先上升后降低，平均水温 23.65℃，较 2020 年 11 月-2021 年 1 月平均水温 18.00℃升高 5.65℃，性腺指数从 4.34%显著上升至全年最高的 10.71%；2021 年 4 月水温升高至 27.50℃，性腺指数显著降低至 1.19%（$P<0.05$）。2021 年 5-10 月水温维持在 25.50-30.50℃，平均水温 29.13℃，6 月水温达到全年最高 30.50℃。性腺指数在 5-8 月有所上升，性腺指数变化不显著（$P>0.05$），平均性腺指数 1.37%，8-10 月性腺指数显著降至最低值 0.45%（$P<0.05$）。

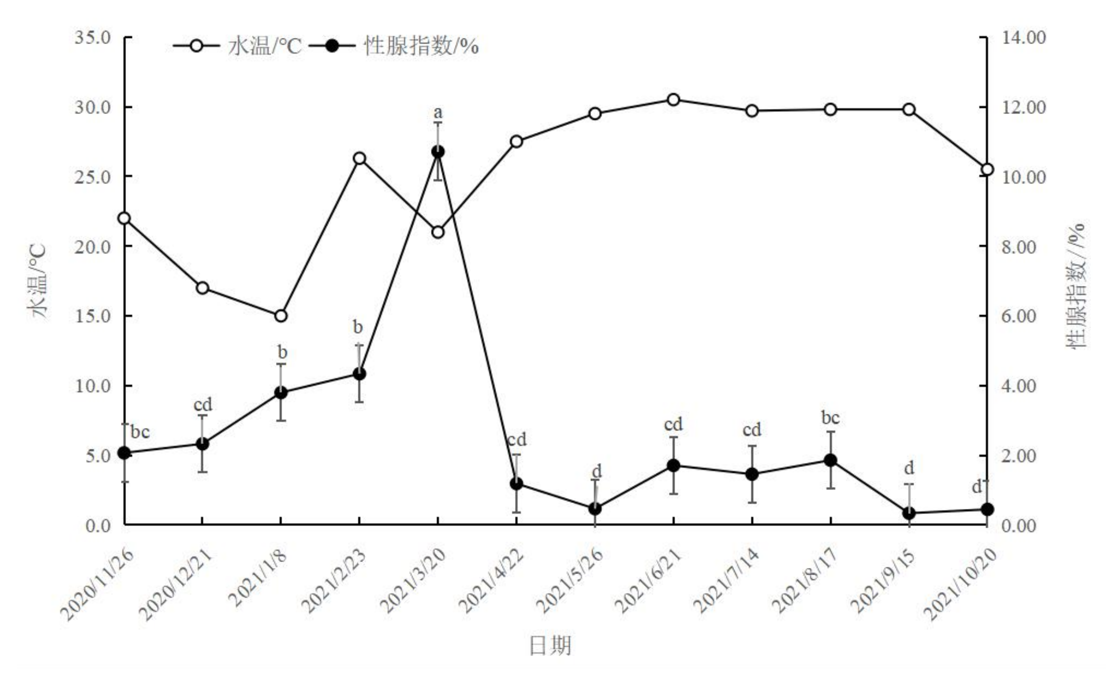


图 1 施氏獭蛤雄性性腺指数与水温的周年变化

字母不同表示月间差异显著（*P*<0.05）

Fig. 1 Annual variation of gonad-somatic index and water temperature of *L. sieboldii*

Different letters indicate significant differences between months (*P*<0.05)

2.2 施氏獭蛤精巢的发育分期

2020 年 11 月-2021 年 10 月，总共采集到 112 个施氏獭蛤雄性样品。依据组织切片精巢内滤泡大小、雄性生殖细胞生长情况和肉眼观察精巢外观的周年变化，施氏獭蛤精巢发育可划分为 5 个时期，即增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期，如图 2 所示。结果表明，施氏獭蛤精巢发育 1 年为 1 个生殖周期，精巢从 9 月份开始增殖，12 月至翌年 3 月份精巢发育到成熟期，翌年 4 月至 8 月份精巢逐渐萎缩。精巢发育各期特征见表 2。

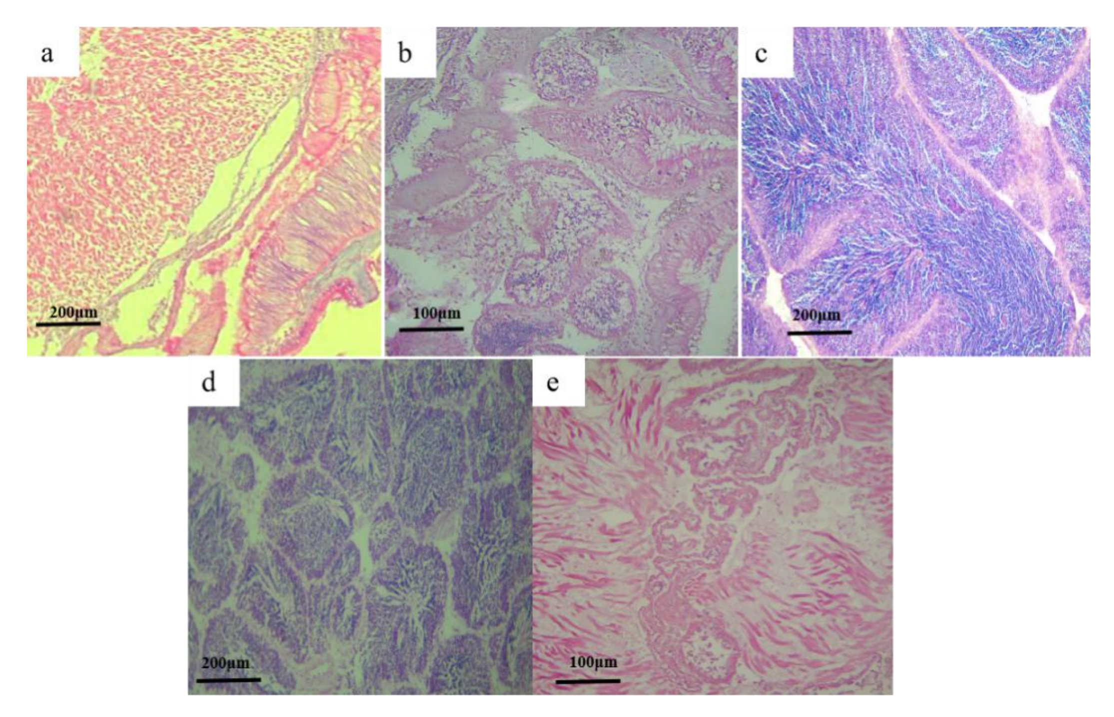


图 2 施氏獭蛤精巢发育分期的组织切片（比例尺 1：0.01 mm）

a 增殖期；b 生长期；c 成熟期；d 排放期；e 休止期

Fig. 2 Developmental stages of spermary of *L. sieboldii* (Bar 1: 0.01 mm)

a. Proliferating stage; b. Growing stage; c. Maturing stage; d. Spawning stage; e. Resting stage

表 2 施氏獭蛤精巢发育特点

Tab.2 The Characteristics of spermary development in *L. sieboldii*

发育周期	各期特点
增殖期（Ⅰ）	精巢透明，结缔组织发达，滤泡呈狭长状，滤泡内空虚。滤泡壁上排列着单层精原细胞（图 2-a）。
生长期（Ⅱ）	精巢开始增殖，滤泡增大，滤泡间隙减小，滤泡壁增厚，精原细胞增殖，滤泡壁上出现多层精原细胞。部分精原细胞分化形成不同发育时期精细胞（图 2-b）。
成熟期（Ⅲ）	精巢扩展至软体部上缘，精巢呈黄色，肉眼可辨,取部分精巢组织于载玻片上，精巢内的精子遇水即散。滤泡间无结缔组织，滤泡内充满成熟精子（图 2-c）。
排放期（Ⅳ）	精巢仍较饱满，滤泡间隙增大。滤泡收缩，滤泡壁变厚，滤泡内成熟精子排出，滤泡大小不一，呈流水状（图 2-d）。
休止期（Ⅴ）	精巢消瘦，肉眼无法分辨雌雄，结缔组织增生，滤泡萎缩。滤泡内大部分排空，滤泡壁上可见部分未排出的精细胞紧贴滤泡壁固着、退化并被重吸收（图 2-e）。

2.3 施氏獭蛤精巢发育各期的周年变化规律

由表 3 可知，在广西北部湾北海海域的一周年采样中，雄性个体总数 112 个，占总数的 46.67%。施氏獭蛤精巢增殖期出现在 10 月份，水温平均值 29.80℃；精巢生长期为 10 月下旬-11 月下旬，水温 22.00-25.50℃；12 月下旬-翌年 3 月为精巢成熟期，水温 15.00-26.30℃。每年 4 月份为精巢排放期，水温 27.50℃；精巢休止期为每年 5-8 月，水温 29.50-30.50℃。

表 3 广西北部湾海域施氏獭蛤精巢发育各期的周年分布

Tab. 3 Annual distribution of spermary development stages of *L. sieboldii* in the Beibu Gulf, Guangxi

取样日期	盐度‰	水温/℃	精巢发育分期					雄性总数/个
			Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	
2020/11/26	27.4	22.0		10	1			11
2020/12/21	27.5	17.0		3	6		1	10
2021/1/8	29.4	15.0		2	9			11
2021/2/23	30.9	26.3			6			6
2021/3/20	30.0	21.0		2	7			9
2021/4/22	30.0	27.5				8		8
2021/5/26	28.0	29.5				1	7	8
2021/6/21	28.4	30.5				5	7	12
2021/7/14	29.0	29.7				5	3	8
2021/8/17	30.0	29.8	1	2		1	3	7
2021/9/15	31.0	29.8	10	1				11
2021/10/20	29.0	25.5		6	4	1		11

2.4 施氏獭蛤的精子发生

参考李霞等（2019）的精子发生分期，将施氏獭蛤雄性生殖细胞的发生分为 4 个时期，即增殖期、生长期、成熟期和变态期，各期特征见图 3 和表 4。

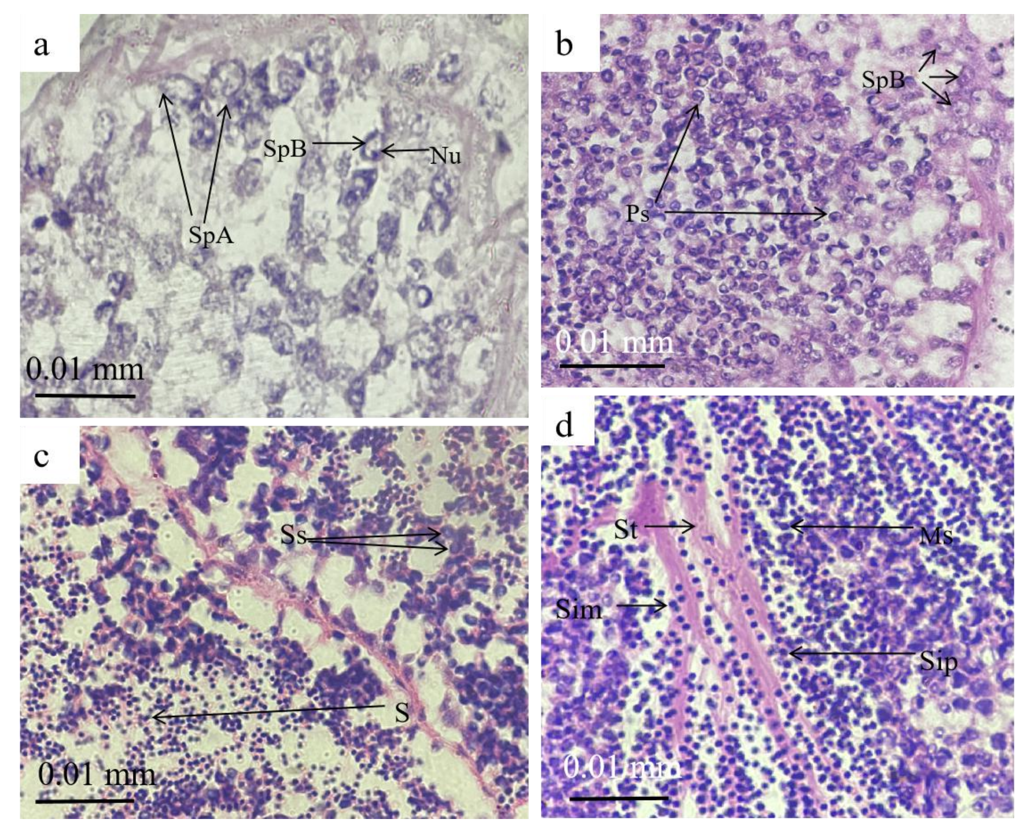


图 3 施氏獭蛤精子发生各期的组织切片（比例尺 1：0.01 mm）

a. 增殖期：示 A 型精原细胞（SpA）、B 型精原细胞（SpB）、核仁（Nu）；b.生长期：示 B 型精原细胞（SpB）、初级精母细胞（Ps）；c.成熟期：示次级精母细胞（Ss）、精细胞（S）；d.变态期：示精细胞前期（Sip）、精细胞中期（Sim）、成熟精子（Ms）、生精小管（St）

Fig. 3 Tissue sections of male *L. sieboldii* at different stages of spermatogenesis (Bar 1:0.01 mm)

a. Proliferating stage: Type A Spermatogonia (SpA), type B Spermatogonia (SpB) and Nucleolus (Nu); b. Growing stage: type B Spermatogonia (SpB), Primary spermatocyte (Ps); c. Maturing stage: Secondary spermatocytes (Ss) and Spermatid (S); d. Metamorphosis stage: Spermatid in prophase (Sip), Spermatid in metaphase (Sim), Mature sperm (Ms), Seminiferous tubule (St)

表 4 施氏獭蛤精子发生各期特点

Tab. 4 Characteristics of spermatogenesis stages of *L. sieboldii*

发生分期	各期发生特点
增殖期	精原细胞紧贴滤泡壁大量增殖的时期，出现在施氏獭蛤Ⅰ-Ⅲ期精巢，尤以Ⅰ-Ⅱ期精巢最常见，精原细胞在滤泡壁上多层排列（图 3-a）。
生长期	同一滤泡内雄性生殖细胞发育不同步，部分精原细胞分化形成初级精母细胞，细胞体积减小，逐渐脱离滤泡壁。此期出现在施氏獭蛤Ⅰ-Ⅲ精巢（图 3-b）。
成熟期	滤泡壁上排列大量次级精母细胞，部分次级精母细胞黏连，呈分裂趋势。从组织切片看，染色较上一期更深。此期出现在施氏獭蛤精巢Ⅲ-Ⅳ期（图 3-c）。
变态期	次级精母细胞分化形成精子细胞。组织切片中此期染色最深，体积最小，可观察到呈圆形的头部横切面和不规则的精子纵切面。此期出现在施氏獭蛤精巢Ⅲ-Ⅴ期（图 3-d）。

2.5 施氏獭蛤成熟精子形态和超微结构

施氏獭蛤精子属于鞭毛型，由头部、中部和尾部 3 部分组成，成熟精子全长 39.76 ± 0.50μm（图 4）。

2.5.1 头部

施氏獭蛤成熟精子头部由顶体和细胞核组成，头部全长 2.60 ± 0.10μm，顶体位于头部前端，近椭圆形，全长 1.35 ± 0.05μm，精核位于头部后端，精核全长 1.26 ± 0.01μm。顶体内电子密度分布均匀，下端与精核连接处内陷形成亚顶体腔，亚顶体腔全长 0.46 ± 0.01μm。精核内电子密度不均匀，中部存在间隙，精核前端和后端有一明显的核前窝和核后窝（图 4-k）。

2.5.2 中部

成熟精子中部长度 1.31 ± 0.01μm。中部不发达，透射电镜纵切面上两个线粒体环绕中心粒（图 4：k-l），中心粒四周有 4 个线粒体排列（图 4: a-b），线粒体内嵴发达。

2.5.3 尾部

远端中心粒伸出 11 对轴丝，轴丝被质膜包裹形成了精子的尾部，全长 34.55 ± 0.23μm，直径 0.20 ± 0.03μm，尾部横切面为圆形，可观察到典型的“9+2”双联体微管结构（图 4-m）。

2.6 施氏獭蛤雄性生殖细胞的发育

根据透射电镜观察施氏獭蛤雄性生殖细胞出现的位置、大小、内部变化情况，将施氏獭蛤雄性生殖细胞的发育划分为 5 个时期，即精原细胞期、初级精母细胞期、次级精母细胞期、精细胞期、成熟精子期（图 4）。

2.6.1 精原细胞期

精原细胞呈长条状紧贴基膜和滤泡壁，细胞体积最大，胞径 13.10 ± 0.22μm，细胞核偏位，核径 4.49 ± 0.10μm，动物极明显。核内染色质分布凌乱，部分染色质聚集，胞质内空虚，分布少量致密颗粒和线粒体，线粒体内嵴较少（图 4-c）。

2.6.2 初级精母细胞期

初级精母细胞部分脱离滤泡壁，呈不规则多边状，细胞体积较精原细胞小，胞径 11.05 ± 0.12μm，细胞核靠近细胞一边，核径 5.40 ± 0.41μm。染色质丝逐渐向细胞核内部聚集，处于偶线期和粗线期。细胞质内线粒体数量增加，电子密度高，线粒体环绕细胞核分布。初级精母细胞发育到后期，染色质聚集于细胞核中央形成核仁（图 4: d-e）。

2.6.3 次级精母细胞期

初级精母细胞分裂过程中一分为二，胞内细胞核消失。胞质内细胞器以线粒体为主，线粒体与致密颗粒多集中分布于细胞一侧。分裂后产生的次级精母细胞直径 7.00 ± 0.20μm，动物极不明显。细胞核内核仁明显，核径 1.40 ± 0.20μm，核膜清晰，胞质内 4 个线粒体包围远端中心粒并逐渐移向细胞核尾部（图 4: f-g）。

2.6.4 精细胞期

精细胞前期，胞径 3.17 ± 0.20μm，胞质内的线粒体内嵴明显，内嵴数量增加，胞质内未出现尾部轴丝和前顶体。精细胞中期，胞径 4.03 ± 0.40μm，远端中心粒伸出轴丝，胞质内的高电子密度物质聚集形成顶体泡，不断向细胞核顶部靠近。精细胞后期，胞径 5.42 ± 0.20μm，前顶体泡电子密度不断升高，形成顶体并与细胞核顶部融合，顶体由倒“V”型逐渐变为近椭圆型。细胞核靠近顶体处有核前窝，靠近轴丝处有核后窝（图 4: h-j）。

2.6.5 成熟精子期

成熟精子体积最小，大量聚集于精巢内，呈近椭圆形。成熟精子头部近椭圆形，细胞核高度浓缩，头部直径约 2.62μm，尾部细长（图 4: k-m）。

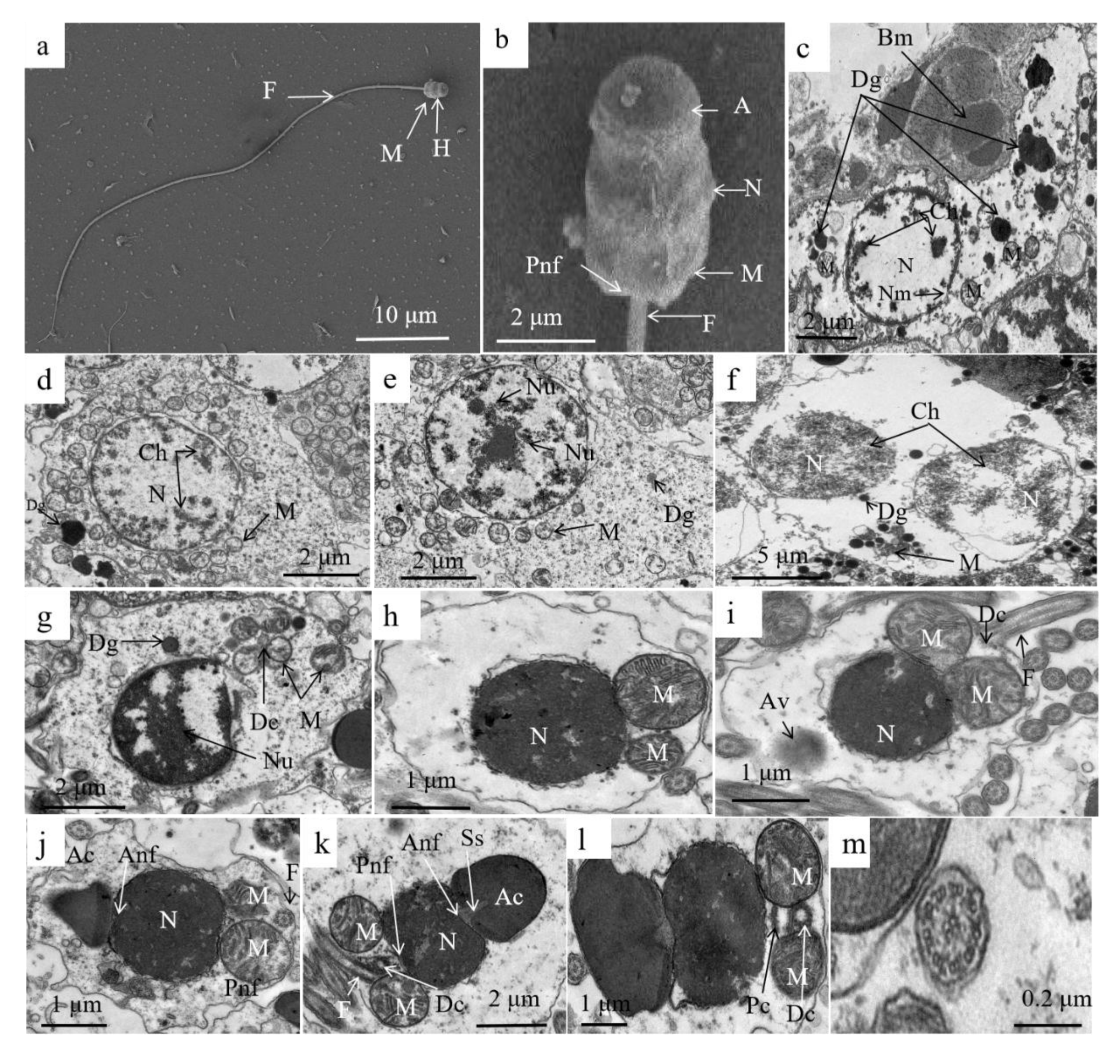


图 4 施氏獭蛤雄性生殖细胞发育各期的超微结构

a.精子全长，示头部（H）、线粒体（M）、鞭毛（F），×3000；b.精子头部，示顶体（Ac）、细胞核（N）、线粒体（M）、核后窝（Pnf）、鞭毛（F），×20000；c.精原细胞，示基膜（Bm）、致密颗粒（Dg）、线粒体（M）、细胞核（N）、染色质丝（Ch）、核膜（Nm），×3000；d.初级精母细胞，示致密颗粒（Dg）、线粒体（M）、细胞核（N）、染色质丝（Ch），×3000；e.初级精母细胞，示致密颗粒（Dg）、线粒体（M）、核仁（Nu），×3000；f.次级精母细胞，示致密颗粒（Dg）、线粒体（M）、细胞核（N）、染色质丝（Ch），×4000；g.次级精母细胞，示致密颗粒（Dg）、线粒体（M）、远端中心粒（Dc）、核仁（Nu），×4000；h.精细胞前期，示细胞核（N）、线粒体（M），×7000；i.精细胞中期，示顶体泡（Av）、细胞核（N）、线粒体（M）、远端中心粒（Dc）、鞭毛（F），×7000；j.精细胞中期，示顶体（Ac）、核前窝（Anf）、细胞核（N）、核后窝（Pnf）、线粒体（M）、鞭毛（F），×7000；k.精细胞后期，示顶体（Ac）、亚顶体腔（Ss）、核前窝（Anf）、细胞核（N）、核后窝（Pnf）、线粒体（M）、远端中心粒（Dc）、鞭毛（F），×7000；l.精细胞后期，示线粒体（M）、远端中心粒（Dc）、近端中心粒（Pc），×4000；m.精细胞尾部横切，×7000

Fig. 4 Ultrastructure of male *L. sieboldii* germ cells at different stages of development

a. Full-length spermatozoa, shows Head (H), Mitochondria (M) and Flagella (F), ×3000; b. Sperm head, shows Acrosome (Ac), Nucleus (N), Mitochondria (M), Posterior nuclear fossa (Pnf), Flagella (F), × 20,000; c. Spermatogonia, shows Basement membrane (Bm), Dense granule (Dg), Mitochondria (M), Nucleus (N), Chromatin filaments (Ch), and Nuclear envelope (Nm), ×3000; d. Primary spermatocytes, shows Dense granules (Dg), Mitochondria (M), Nuclei (N), and Chromatin filaments (Ch), ×3000; e. Primary spermatocytes, shows Dense granules (Dg), Mitochondria (M), and Nucleoli (Nu), ×3000; f. Secondary spermatocytes, shows dense

granules (Dg), Mitochondria (M), Nuclei (N), and Chromatin filaments (Ch), ×4000; g. Secondary spermatocytes, shows Dense granules (Dg), Mitochondria (M), Distal centrioles (Dc), and Nucleoli (Nu), ×4000; h. Spermatocytic prophase, shows Nucleus (N) and Mitochondria (M), ×7000; i. metaphase of spermatocytes, shows Acrosomal vesicles (Av), Nuclei (N), Mitochondria (M), Distal centrioles (Dc), Flagella (F), ×7000; j. Spermatocyte metaphase, shows Acrosome (Ac), Anterior nuclear fossa (Anf), Nucleus (N), Post nuclear fossa (Pnf), Mitochondria (M), Flagella (F), ×7000; k. In late spermatocyte stage, shows Acrosome (Ac), Subacrosomal cavity (Ss), Anterior nuclear fossa (Anf), Nucleus (N), Post nuclear fossa (Pnf), Mitochondria (M), Distal centriole (Dc), Flagella (F), ×7000; l. In late spermatocyte stage, shows Mitochondria (M), Distal centriole (Dc) and Proximal centriole (Pc), ×4000;m. spermatozoa caudal transection, ×7000

3 讨论

3.1 广西北部湾海域雄性施氏獭蛤繁殖规律及影响因素

双壳贝类的繁殖周期一般为一年，期间可能出现1-2个繁殖盛期（庄启谦，2001）。宁军号等（2015）研究表明，偏顶蛤（*Modiolus modiolus*）繁殖周期为1年，6-10月为繁殖盛期。巫旗生等（2017）研究表明，钝缀锦蛤繁殖周期为1年，繁殖盛期为10-11月和翌年3月。本研究通过对广西北部湾北海海域施氏獭蛤周年性腺指数分析和周年组织切片观察表明，施氏獭蛤精巢发育分期明显，分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期，1周年为1个发育周期，每期1-2个体性腺发育略滞后，全年只有1个繁殖盛期。双壳贝类的繁殖期与水温有关（柯巧珍 等，2012）。鹿瑶等（2015）研究表明，水温升高可促进薄片镜蛤（*Dosinia corrugata*）性腺成熟，进入繁殖盛期。於锋等（2016）对不同养殖海区的长牡蛎性腺发育研究表明，高温促进了长牡蛎性腺的成熟。本研究表明，广西北部湾海域施氏獭蛤繁殖盛期与水温变化密切相关。当水温由11月份的22.00℃下降至12月份的17.00℃时，施氏獭蛤精巢开始成熟，进入繁殖盛期，当翌年4月份，水温升至27.50℃时，精巢开始排放成熟精子，翌年5月份，水温升高至29.50℃时，精巢进入休止期。与其它在高温季节性腺成熟的双壳贝类不同，施氏獭蛤精巢于水温降低的12月份开始成熟，推测与施氏獭蛤适宜性腺发育的水温有关。施氏獭蛤适宜生活的海区水温为20.00-28.00℃（蔡英亚 等，2005），而广西北部湾北海海域夏季（5-7月）和秋季（8-10月）平均水温分别为29.90℃和28.37℃，较高的水温可能抑制了施氏獭蛤精巢的成熟。

此外，海产双壳贝类的繁殖周期还可能会受内在因素的调控（Liu et al, 2010; Nowland et al, 2019），如脂质和糖原含量等（Berthelin et al, 2000; 朱星海 等，2019）。Berthelin et al（2000）对长牡蛎繁殖周期的研究表明，性腺内脂质和蛋白质含量的增加有助于雌雄配子的排放。王朔等（2022）研究表明，性腺结缔组织中的糖原为配子发生提供能量，脂质可为雄性长牡蛎性腺发育提供能量。吕敏等（2022）研究表明，糖原是配子发生的主要能源物质，脂肪和蛋白质含量与配子成熟和排放密切相关。

3.2 施氏獭蛤精子发生和发育的特点

精子发生的过程中，原始生殖细胞分化形成精原细胞，精原细胞发育至成熟精子并排出体外（李霞，2019）。本研究根据施氏獭蛤精细胞出现的时期及其在不同发育时期精巢内的表现，将其精子的发生分为4个时期：增殖期、生长期、成熟期和变态期，与李霞（2019）对双壳贝类精子发生的分期相同，与彩虹明樱蛤（余红卫，2012）、长竹蛏（饶小珍，2007）等双壳贝类精子发生的分期不同。同时，根据施氏獭蛤雄性生殖细胞不同发育时期的内外部变化，可将雄性生殖细胞的发育过程划分为精原细胞期、初级精母细胞期、次级精母细胞期、精细胞期，成熟精子期，与管角螺（区小玲 等，2015）、钝缀锦蛤（连昌朋 等，2022）的雄性生殖细胞发育分期相同。

精原细胞是精细胞发育、分化的起点（杨学明 等，2016），不同学者对精原细胞的定义和分类不同。吴洪流等（2000）研究波纹巴非蛤（*P. undulate*）精原细胞内有无核仁、分布位置和

是否静止，将其分为 A 型和 B 型，A 型精原细胞位置固定，B 型精原细胞可继续生长发育。郭恩棉等（2017）研究表明，A 型精原细胞体积大，核仁不明显；B 型精原细胞体积小，核仁明显。曹伏君等（2012）研究表明，广东湛江海域施氏獭蛤精原细胞的大小、分布位置、出现时期不同，提出 A 型精原细胞可继续分化，B 型精原细胞为干细胞。另外，宁军号等（2015）对偏顶蛤精原细胞的观察，表明 A 型精原细胞分布在各发育阶段的精巢内，B 型精原细胞主要分布在增殖期的精巢。本研究表明，在施氏獭蛤精子发生早期，精原细胞分布在精巢基膜和滤泡内的滤泡壁边缘，呈椭圆形，在组织切片下，精原细胞有 A、B 两种不同的类型。A 型精原细胞体积大，只出现在增殖期精巢内，胞内核仁不明显。B 型精原细胞体积小，出现在增殖期和生长期精巢内，胞内核仁明显。该结果与吴洪流等（2000）、郭恩棉等（2017）对精原细胞的分型相同，与宁军号等（2015)、曹伏君等（2012）对精原细胞的分型不同。关于施氏獭蛤两种类型精原细胞能否继续分化有待进一步研究。

3.3 施氏獭蛤精子的超微结构

精子结构可用于双壳贝类分类鉴定（董迎辉 等，2010）。本研究探讨了施氏獭蛤精子超微结构，并与不同双壳贝类成熟精子的超微结构进行比较，表明不同贝类精子结构存在差异（表 5）。施氏獭蛤精子头部包括顶体和细胞核，呈椭圆形，顶体呈近圆球形，顶体底部有一明显的亚顶体腔。成熟精子外观上与褶纹冠蚌（*Cristaria plicata*）（邓道贵 等，2001）、皱纹盘鲍（*Haliotis discus hannai*）（崔龙波 等，2000）相似；与部分双壳贝类不同，如褐蚶（杜晨 等，2015)、泥蚶（孙慧玲 等，2000）的顶体呈倒“V”形，长牡蛎（韩龙江 等，2017）顶体呈突出结构，栉江珧（顾向飞 等，2013）顶体外膜包裹一层弧状膜。施氏獭蛤的精核近椭圆形，中间存在电子密度较小的间隙，与魁蚶（叶婧 等，2012）精子的精核相似。余红卫（2012）研究表明，精核内存在间隙是精子形成过程中的自然现象。不同物种精核的核前窝与核后窝不同，文蛤（Gwo et al, 2020）、毛蚶（竺俊全 等，2004）均无核前窝，有核后窝。本研究中，施氏獭蛤精核顶部和底部有明显的核前窝和核后窝，与上述两者不同。另外，不同物种的精子中部线粒体数不同，双壳贝类精子线粒体数大多为 4-5 个，偶然出现 6 个（董迎辉 等，2010）。施氏獭蛤精子中部包括线粒体，近端中心粒和远端中心粒，4 个圆球状线粒体围绕中心粒，与长牡蛎（韩龙江 等，2017）相同。施氏獭蛤精子尾部的远端中心粒伸出轴丝，由质膜包裹轴丝组成尾部，精子尾部结构与部分海产双壳贝类相同（表 5)，均为“9+2”的双联体微管结构。

表5 不同双壳贝类的精子超微结构比较

Tab.5 Comparison of sperm ultrastructure of different bivalve mollusks

种类	精子头部	精子中部	精子尾部	参考文献
施氏獭蛤 *Lutraria sieboldii*	顶体近圆球形，细胞核近椭圆形，有核前窝和核后窝。	4 个线粒体环绕中心粒复合体排列	“9+2”双联体微管结构	本文
栉江珧 *Atrina pectinata*	顶体呈倒“V”形，近顶体外膜有一弧状膜，细胞核近圆形，有核前窝无核后窝。	5 个线粒体辐射状排列在中心粒周围	“9+2”双联体微管结构	（顾向飞等，2013）
斧文蛤 *Meretrix lamarkii*	顶体呈圆锥形，细胞核为长圆柱形，有核前窝和核后窝。	5 个线粒体单层梅花状围绕在中心粒周围	“9+2”双联体微管结构	（董迎辉等，2011）
钝缀锦蛤 *Tapes conspersus*	顶体呈倒“V”形，细胞核呈长圆柱形，有核前窝和核后窝。	5 个圆环状线粒体包裹中心粒复合体	“9+2”双联体微管结构	（连昌朋等，2022）

文蛤 *Meretrix meretrix*	顶体呈倒“V”形，细胞核长圆柱形，内含形状不规则的透明腔，有核前窝和核后窝。	5个线粒体围绕一对中心粒	“9+2”双联体微管结构	（Gwo et al, 2020）
长牡蛎 *Crassostrea gigas*	顶体突出，头部近似圆形，头部包含亚顶体腔、细胞核，有核前窝和核后窝。	4个圆球形的线粒体围绕中心粒	“9+2”双联体微管结构	(韩龙江等，2017)

关于精子顶体来源和形成过程，代培芳等（2004）对菲律宾蛤仔精子发生过程的超微结构研究表明，高尔基体囊泡扩大转移至精核前端，形成前顶体囊，囊泡不断融合形成顶体。杨学明等（2016）对糙海参（*Holothuria scabra*）的研究表明，胞质内高电子密度物质与线粒体和高尔基体融合，形成糙海参精子顶体。本研究中未明显观察到施氏獭蛤精子胞质内高尔基体和其它细胞器变化情况。关于施氏獭蛤精子顶体的来源、形成过程和机理有待进一步研究。

4 结论

广西北部湾海域雄性施氏獭蛤繁殖周期为1年，分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期。精子发生可分为增殖期、生长期、成熟期和变态期。雄性生殖细胞的发育分为精原细胞期、初级精母细胞期、次级精母细胞期、精细胞期、成熟精子期。施氏獭蛤精子属于鞭毛型，全长39.76 ± 0.50μm，头部近椭圆形，具顶体，精核内存在间隙，精核前端和后端有一明显的核前窝和核后窝，中部有4个线粒体，尾部有11对轴丝，呈“9+2”的双联体微管结构。此外，精原细胞可分为A型和B型，A型精原细胞核内核仁不明显，B型精原细胞核内核仁明显。

参考文献 References

蔡英亚, 劳赞, 陈东, 2005. 施氏獭蛤的生态观察[J]. 湛江海洋大学学报, 25(1): 39-42. CAI YINGYA, LAO ZAN, CHEN DONG, 2005. An ecological observation of *Lutraria sieboldii*[J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 25(1): 39-42 (in Chinese with English abstract).

曹伏君, 刘永, 张春芳, 等, 2012. 施氏獭蛤(*Lutraria sieboldii*)性腺发育和生殖周期的研究[J]. 海洋与湖沼, 43(5): 976-982. CAO FUJUN, LIU YONG, ZHANG CHUNFANG, et al, 2012. Studies on the sex gonad development and reproductive cycle of *Lutraria sieboldii*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 43(5): 976-982 (in Chinese with English abstract).

陈寅山, 饶小珍, 柯佳颖, 等, 2006. 沟纹巴非蛤精子发生过程的超微结构观察[J]. 海洋科学, 30(8): 28-33. CHEN YINSHAN, RAO XIAOZHEN, KE JIAYING, et al, 2006. Observation on the ultrastructure of spermatogenesis of *Paphia exarata* Philippi[J]. Marine Sciences, 30(8): 28-33 (in Chinese with English abstract).

崔龙波, 周雪莹, 陆瑶华, 2000. 皱纹盘鲍精巢及精子结构的研究[J]. 烟台大学学报, 13(2): 103-107. CUI LONGBO, ZHOU XUEYING, LU YAOHUA, 2000. Structure of the spermary and the spermatozoa of *Haliotis Discus Hannai* Ino[J]. Journal of Yantai University, 13(2): 103-107 (in Chinese with English abstract).

邓传敏, 孔令锋, 于瑞海, 等, 2017. 长牡蛎壳金选育群体性腺发育与营养成分的周年变化[J]. 中国水产科学, 24(1): 40-49. DENG CHUANMIN, KONG LINGFENG, YU RUIHAI, et al, 2017. Seasonal variation in gonadal development and nutritive components in the golden shell colored strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 24(1): 40-49 (in Chinese with English abstract).

杜晨, 龙玲利, 盛樟, 等, 2015. 褐蚶(*Didimarca tenebrica*)精子的超微结构[J]. 宁波大学学报, 28(3): 1-4. DU CHEN, LONG LINGLI, SHENG ZHANG, et al, 2015. Ultrastructure of spermatozoa of *Didimarca tenebrica*[J]. Journal of Ningbo University, 28(3): 1-4 (in Chinese with English abstract).

董迎辉, 林志华, 柴雪良, 等, 2010. 文蛤(*Meretrix meretrix*)精子的超微结构及精子入卵过程的电镜观察[J]. 海

洋与湖沼, 41(5): 726-732. DONG YINGHUI, LIN ZHIHUA, CHAI XUELIANG, et al, 2010. Electron microscope observation on ultrastructure of spermatozoon and penetration in *Meretrix meretrix*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 41(5): 726-732 (in Chinese with English abstract).

董迎辉, 林志华, 姚韩韩, 2011. 斧文蛤精子超微结构与受精过程的细胞学变化[J]. 水产学报, 35(3): 356-364. DONG YINGHUI, LIN ZHIHUA, YAO HANHAN, 2011. Studies on ultrastructure of spermatoazoon and cytological change of nuclear behavior on fertilization in *Meretrix lamarkii*[J]. Journal of Fisheries of China, 35(3): 356-364 (in Chinese with English abstract).

代培芳, 饶小珍, 陈寅山, 2004. 菲律宾蛤仔的精子发生和精子超微结构[J]. 动物学杂志, 39(2): 26-32. DAI PEIFANG, RAO XIAOZHEN, CHEN YINSHAN, 2004. Ultrastructural Studies on Spermatozoon and Spermatogenesis of *Ruditapes philippinarum*[J]. Chinese Journal of Zoology, 39(2): 26-32 (in Chinese with English abstract).

邓道贵, 谈奇坤, 2001. 褶纹冠蚌精子的超微结构研究[J]. 水生生物学报, 25(5): 481-485. DENG DAOGUI, TAN QIKUN, 2001. Studies on ultrastructure of the sperm of freshwater Mussel, *Cristaria plicata*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 25(5): 481-485 (in Chinese with English abstract).

顾向飞, 边平江, 周小龙, 等, 2013. 栉江珧精子超微结构的电镜观察[J]. 海洋科学, 37(8): 67-71. GU XIANGFEI, BIAN PINGJIANG, ZHOU XIAOLONG, et al, 2013. Observation on ultrastructure of spermatozoon in *Atrina pectinata* with electron microscope[J]. Marine Sciences, 37(8): 67-71 (in Chinese with English abstract).

郭恩棉, 王沈同, 崔亮, 等, 2017. 扇贝"渤海红"性腺结构及生殖细胞发生的组织学研究[J]. 海洋科学, 41(9): 9-12. GUO ENMIAN, WANG SHENTONG, CUI LIANG, et al, 2017. Histological study of gonad structure and gamete genesis in Bohai-red scallop[J]. Marine Sciences, 41(9): 9-12 (in Chinese with English abstract).

韩厚伟, 高悦勉, 刘春凤, 等, 2008. 虾夷扇贝精子的超微结构[J]. 动物学杂志, 43(1): 75-81. HAN HOUWEI, GAO YUEMIAN, LIU CHUNFENG, et al, 2008. Ultrastructure of the spermatozoon in *Patinopecten yessoensis*[J]. Chinese Journal of Zoology, 43(1): 75-81 (in Chinese with English abstract).

韩龙江, 刘清华, 许飞, 等, 2017. 长牡蛎精子超低温冷冻后超微结构损伤研究[J]. 水生生物学报, 41(1): 220-227. HAN LONGJIANG, LIU QINGHUA, XU FEI, et al, 2017. Study on ultrastructure observation of fresh and cryopreserved sperm in *Crassostrea gigas*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 41(1): 220-227 (in Chinese with English abstract).

黄瑞, 黄标武, 李林春, 等, 2011. 近江蛏精子超微形态结构观察及与缢蛏精子的比较[J]. 水产学报, 35(1): 58-65. HUANG RUI, HUANG BIAOWU, LI LINCHUN, et al, 2011. Comparative ultrastructure of spermatozoa of *Sinonovacula rivularis* sp. *nov*. and *Sinonovacula constricta*[J]. Journal of Fisheries of China, 35(1): 58-65 (in Chinese with English abstract).

焦宗垚, 刘永, 张春芳, 2010. 施氏獭蛤融合卵裂及其胚胎发育过程观察[J]. 动物学研究, 31(4): 408-414. JIAO ZONGYAO, LIU YONG, ZHANG CHUNFANG, 2010. Fusion cleavage and observation on the embryo development of *Lutraria sieboldii* Reeve[J]. Zoological Research, 31(4): 408-414 (in Chinese with English abstract).

柯巧珍, 李琪, 闫红伟, 等, 2012. 山东北部沿海四角蛤蜊性腺发育年周期研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 42(11): 28-34. KE QIAOZHEN, LI QI, YAN HONGWEI, et al, 2012. Annual observation on the reproduction of Surf Clam (*Mactra veneriformis*) inhabiting the north coast of Shandong peninsula[J]. Periodical of Ocean University of China, 42(11): 28-34 (in Chinese with English abstract).

刘永, 余祥勇, 梁飞龙, 等, 2007. 施氏獭蛤幼虫和稚贝发育及行为的研究[J]. 广东海洋大学学报, 27(1): 17-21. LIU YONG, YU XIANGYONG, LIANG FEILONG, et al, 2007. Development and behavior of the larvae and juveniles of *Lutraria sieboldii* Reeve[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 27(1): 17-21 (in Chinese with English abstract).

刘永, 梁飞龙, 毛勇, 等, 2006. 施氏獭蛤人工育苗技术的研究[J]. 湛江海洋大学学报, 26(3): 98-101. LIU YONG, LIANG FEILONG, MAO YONG, et al, 2006. Study on the artificial seedling rearing technique of *Lutraria sieboldii* [J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 26(3): 98-101 (in Chinese with English abstract).

李猛, 虞炯莹, 王卫民, 2022. 二倍体泥鳅与大鳞副泥鳅及杂交F1精子结构与活力[J]. 水产学报, 46(1): 41-50. LI MENG, YU JIONGYING, WANG WEIMIN, 2022. Structure and vitality of sperm of diploid *M. anguillicaudatus, P. dabryanus* and their hybrid F1[J]. Journal of Fisheries of China, 46(1): 41-50 (in Chinese with English abstract).

连昌朋, 王超奇, 杨凌, 等, 2022. 广西北部湾钝缀锦蛤精巢发育、精子发生及超微结构研究[J]. 海洋科学, 46(6): 80-89. LIAN CHANGPENG, WANG CHAOQI, YANG LING, et al, 2022. Testis and germ cell development and sperm ultrastructure of *Tapes conspersus* inhabiting the Beibu Gulf, Guangxi, China[J]. Marine Sciences, 46(6): 80-89 (in Chinese with English abstract).

李霞, 2019. 水产动物组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 172-173. LI XIA, 2019. Histoembryology of aquatic animals[M]. Beijing: China Agriculture Press, 178-179 (in Chinese).

鹿瑶, 刘辉, 聂鸿涛, 等, 2015. 辽宁沿海薄片镜蛤的繁殖周期研究[J]. 大连海洋大学学报, 30(6): 647-652. LU YAO, LIU HUI, NIE HONGTAO, et al, 2015. Reproductive cycle of clam *Dosinia corrugate* along coast of Liaoning Province[J]. Journal of Dalian Ocean University, 30(6): 647-652 (in Chinese with English abstract).

吕敏, 李琪, 2022. 山东田横岛海域长牡蛎性腺发育及生化成分周年分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 52(2): 33-40. LV MIN, LI QI, 2022. Seasonal Variations of gonadal development and biochemical components of *Crassostrea gigas* in Tianheng Island sea area, Shandong[J]. Periodical of Ocean University of China, 52(2): 33-40 (in Chinese with English abstract).

宁军号, 常亚青, 宋坚, 等, 2015. 偏顶蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 中国水产科学, 22(3): 469-477. NING JUNHAO, CHANG YAQING, SONG JIAN, et al, 2015. Gonadal development and the reproductive cycle of *Modiolus modiolus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 22(3): 469-477 (in Chinese with English abstract).

区小玲, 苏翔驹, 何俊锋, 等, 2015. 广西北部湾管角螺性腺发育与繁殖规律研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 45(11): 20-28. OU XIAOLING, SU XIANGJU, HE JUNFENG, et al, 2015. Studies on the gonadal development and reproductive pattern of *Hemifusus tuba* (Gmelin) inhabiting Beibu Gulf, Guangxi, China[J]. Periodical of Ocean University of China, 45(11): 20-28 (in Chinese with English abstract).

潘英, 苏以鹏, 2007. 大獭蛤的核型研究[J]. 海洋科学, 31(9): 87-90. PAN YING, SU YIPENG, 2007. The karyotype of *Lutraria maxima* Jonas[J]. Marine Sciences, 31(9): 87-90 (in Chinese with English abstract).

潘英, 秦小明, 潘红平, 2007. 大獭蛤软体部营养成分的分析与评价[J]. 广东海洋大学学报, 27(3): 78-81. PAN YING, QIN XIAOMING, PAN HONGPING, 2007. Analysis and evaluation of nutritive composition in edible part of *Lutraria maxima*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 27(3): 78-81 (in Chinese with English abstract).

饶小珍, 2007. 长竹蛏精子发生和精子的超微结构观察[J]. 热带海洋学报, 26(2): 49-54. RAO XIAOZHEN, 2007. Observation on ultrastructure of the spermatogenesis and mature sperm of *Solen strictus*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 26(2): 49-54 (in Chinese with English abstract).

孙慧玲, 方建光, 王清印, 2000. 泥蚶精子的超微结构[J]. 水产学报, 24(4): 297-302. SUN HUILING, FANG JIANGUANG, WANG QINGYIN, 2000. Ultrastructure of the spermatozoon of *Tegillaca granosa*[J]. Journal of Fisheries of China, 24(4): 297-302 (in Chinese with English abstract).

王斌, 栗志民, 刘志刚, 等, 2015. 施氏獭蛤室内规模化人工育苗技术研究[J]. 广东海洋大学学报, 35(1): 35-42. WANG BIN, LI ZHIMIN, LIU ZHIGANG, et al, 2015. Studies on large scale artificial breeding of *Lutraria sieboldii*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 35(1): 35-42 (in Chinese with English abstract).

武祥伟, 张跃环, 肖述, 等, 2020. 熊本牡蛎壳金品系与壳黑品系的生长、存活、性腺发育及生化成分的周期性变化[J]. 水生生物学报, 44(4): 728-735. WU XIANGWEI, ZHANG YUEHUAN, XIAO SHU, et al, 2020. Characteristics of growth, survival, gonadal development and biochemical component between the golden shell and black shell lines of *Crassostrea sikamea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 44(4): 728-735 (in Chinese with English abstract).

吴丽云, 郑丹华, 高如承, 2010. 中国血蛤精子超微结构的研究[J]. 福建师范大学学报, 26(6): 92-96. WU LIYUN, ZHENG DANHUA, GAO RUCHENG, 2010. Ultrastructural observation on the spermatozoon of *Hiatula chinensis*[J]. Journal of Fujian Normal University, 26(6): 92-96 (in Chinese with English abstract).

巫旗生, 文宇, 曾志南, 2017. 钝缀锦蛤繁殖周期和胚胎发育[J]. 中国水产科学, 24(3): 488-496. WU QISHENG, WEN YU, ZENG ZHINAN, 2017. The reproductive cycle and embryonic development of the bivalve mollusk *Tapes conspersus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 24(3): 488-496 (in Chinese with English abstract).

於锋, 罗帮, 陈雪芬, 等, 2016. 广西茅尾海的香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)在不同养殖区的性腺发育变化[J]. 渔业科学进展, 37(3): 134-142. WU FENG, LUO BANG, CHEN XUEFEN, et al, 2016. Gonad development of oyster (*Crassostrea hongkongensis*) at different cultural sites in Maowei Bay, Guangxi, China[J]. Progress In Fishery Sciences, 37(3): 134-142 (in Chinese with English abstract).

王朔, 于红, 李琪, 2022. 不同育性长牡蛎性腺发育过程中糖原和脂质的组织化学研究[J]. 水产学报, 46(12): 2297-2305. WANG SHUO, YU HONG, LI QI, 2022. Histochemical study of glycogen and lipid of different fertility Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) during gonadal development[J]. Journal of Fisheries of China, 46(12): 2297-2305 (in Chinese with English abstract).

吴洪流, 伍春雨, 陈雪芬, 等, 2000. 波纹巴非蛤雄性生殖腺的组织学观察[J]. 海南大学学报, 18(2): 169-174. WU HONGLIU, WU CHUNYU, CHEN XUEFEN, et al, 2000. Histological studies on male gonad in *Paphia undulata*[J]. Journal of Hainan University, 18(2): 169-174 (in Chinese with English abstract).

徐凤山, 张素萍, 2008. 中国海产双壳类图志[M]. 北京: 科学出版社, 162-163. XU FENGSHAN, ZHANG SUPING, 2008. An Illustrated Bivalvia Mollusca Fauna of China Seas[M]. Beijing: Science press, 162-163 (in Chinese).

叶婧, 姜建湖, 2012. 魁蚶精子发生的超微结构[J]. 上海海洋大学学报, 21(2): 199-203. YE JING, JIANG JIANHU, 2012. Ultrastructure of spermatogenesis of *Scapharca broughtoni*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 21(2): 199-203 (in Chinese with English abstract).

余红卫, 2012. 彩虹明樱蛤精子发生的超微结构[J]. 电子显微学报, 31(1): 65-69. YU HONGWEI, 2012. Ultrastructure of the spermatogenesis of *Moerella iridescens* Benson[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 31(1): 65-69 (in Chinese with English abstract).

杨学明, 吴明灿, 张立, 等, 2016. 糙海参精子的发生及超微形态结构[J]. 海洋科学, 40(5): 49-56. YANG XUEMING, WU MINGCAN, ZHANG LI, et al, 2016. Spermatogenesis and sperm morphology of sea cucumber, *Holothuria scabra*[J]. Marine Sciences, 40(5): 49-56 (in Chinese with English abstract).

张春芳, 刘永, 2010. 施氏獭蛤稚贝中间培育与海区养殖试验[J]. 水产养殖, 31(5): 5-8. ZHANG CHUNFANG, LIU YONG, 2010. Studies on the juvenile-rearing and sea-culturing of *Lutraria sieboldii* Reeve[J]. Journal of Aquaculture, 31(5): 5-8 (in Chinese with English abstract).

邹杰, 张守都, 彭慧婧, 等, 2021. 施氏獭蛤早期生长性状遗传参数和育种值估计[J]. 海洋科学, 45(2): 99-105. ZOU JIE, ZHANG SHOUDU, PENG HUIJING, et al, 2021. Estimation of genetic parameters and breeding values of early growth traits of *Lutraria sieboldii*[J]. Marine Sciences, 45(2): 99-105 (in Chinese with English abstract).

邹杰, 彭慧婧, 张守都, 等, 2020. 施氏獭蛤壳体表型性状对体质量的影响分析[J]. 水产科学, 39(4): 573-578. ZOU JIE, PENG HUIJING, ZHANG SHOUDU, et al, 2020. Effects of shell phenotypic traits on body weight

of Clam *Lutraria sieboldii*[J]. Fisheries Science, 39(4): 573-578 (in Chinese with English abstract).
郑学斌, 张清科, 乐韵, 等, 2018. 香鱼(*Plecoglossus altivelis*)精子的超微结构及其与鲤形目及鲑形目其他鱼类精子结构的比较研究[J]. 海洋与湖沼, 49(4): 866-872. ZHENG XUEBIN, ZHANG QINGKE, LE YUN, et al, 2018. Scanning and transmission electron microscopic observation of spermatozoon in *Plecoglossus altivelis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 49(4): 866-872 (in Chinese with English abstract).
竺俊全, 杨万喜, 2004. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系[J]. 动物学研究, 25(1): 57-62. ZHU JUNQUAN, YANG WANXI, 2004. Spermatozoon ultrastructure of *Scapharca subcrenata* and *Barbatia virescens* and it's implications for evolutionary relationship in Arcidae[J]. Zoological Research, 25(1): 57-62 (in Chinese with English abstract).
周小龙, 董迎辉, 边平江, 等, 2012. 帘文蛤精子超微结构及与其他双壳贝类的比较[J]. 台湾海峡, 31(4): 495-500. ZHOU XIAOLONG, DONG YINGHUI, BIAN PINGJIANG, et al, 2012. Ultrastructure of spermatozoon in *Mererix lyrate* and comparision with other bivalves[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 31(4): 495-500 (in Chinese with English abstract).
庄启谦, 2001. 中国动物志 软体动物门 双壳纲 帘蛤科[M]. 北京: 科学出版社, 47-48. ZHUANG QIQIAN, 2001. Fauna Sinica Phyllum Mollusca Class Bivalvia Family Veneridae[M]. Beijing: Science Press, 47-48 (in Chinese with English abstract).
朱星海, 孙红振, 杨祖晶, 等, 2019. 风信标扇贝的性腺发育与繁殖周期规律研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 49(2): 52-58. ZHU XINGHAI, SUN HONGZHEN, YANG ZUJING, et al, 2019. Studies on gonadal development and the reproductive cycle of *Patinopecten caurinus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 49(2): 52-58 (in Chinese with English abstract).
BERTHELIN C, KELLNER K, MATHIEU M, 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France)[J]. Comp Biochem Physiol B: Biochemistry and Molecular Biology, 125(3): 359-369.
GIRIBET G, WHEELER W, 2002. On bivalve phylogeny: a high-level analysis of the Bivalvia (Mollusca) based on combined morphology and DNA sequence data[J]. Invertebrate Biology, 121(4): 271-324.
GWO J, HSU T, 2020. Ultrastructure of sperm and complete mitochondrial genome in *Meretrix sp*. (Bivalvia: Veneridae) from Taiwan[J]. Tissue and Cell, 67: 101454.
HUNT S, 1973. Chemical and physical studies of the chitinous siphon sheath in the Lamellibranch *Lutraria* and its relationship to the periostracum[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 45(2): 311-323.
LIU WENGUANG, LI QI, GAO FENGXIANG, et al, 2010. Effect of starvation on biochemical composition and gametogenesis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Fisheries Science, 76(5): 737-745.
NOWLAND S J, 2019. Monsoonally driven reproduction in the tropical Black-Lip Rock oyster *Saccostrea echinata* (Quoy & Gaimard, 1835) in Northern Australia[J]. Journal of Shellfish Research, 38(1): 89-100.
SU XIANGJU, PAN YING, ZUO ZIRONG, et al, 2013. Isolation and characterization of microsatellite loci in the clam *Lutraria sieboldii* Reeve (Bivalvia: Veneroida)[J]. Conservation Genetics Resources, 5(1): 223-225.